

## ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО РОСТОВОГО ФАКТОРА $\beta 1$ И МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 9 КАК МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ФОРМИРОВАНИЯ ИСТМИКО-ЦЕРВИКАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У ПАЦИЕНТОК С НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

КОНОНЕНКО И.С.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №3. – С. 50-58.

## GENES POLYMORPHISMS OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR $\beta 1$ AND MATRIX METALLOPROTEINASE 9 AS MOLECULAR AND GENETIC PREDICTORS OF ISTHMIC-CERVICAL INSUFFICIENCY DEVELOPMENT IN FEMALE PATIENTS WITH UNDIFFERENTIATED CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA

KONONENKO I.S.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2020;19(3):50-58.

---

### Резюме.

Учитывая высокую распространённость недифференцированной дисплазии соединительной ткани (НДСТ) среди женщин репродуктивного возраста (от 53% до 68,8%), представляется актуальным определение роли генетически детерминированного аномального метаболизма соединительной ткани на фоне НДСТ в генезе истмико-цервикальной недостаточности (ИЦН).

Цель исследования – изучить ассоциацию полиморфизмов A-8202G (rs11697325) гена матриксной металлопротеиназы 9 (MMP9) и Arg25Pro (rs1800471) гена трансформирующего ростового фактора бета 1 (TGF $\beta$ 1) с истмико-цервикальной недостаточностью у пациенток с недифференцированной дисплазией соединительной ткани.

Материал и методы. В рамках исследования типа «случай-контроль» обследована 71 пациентка с одноплодной маточной беременностью в сроке 22-24 недели. Основная группа – 36 пациенток с ИЦН и НДСТ, группа контроля – 35 здоровых беременных без ИЦН. Проведен анализ акушерско-гинекологического, соматического анамнеза. Методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (АС-ПЦР) выполнено молекулярно-генетическое типирование обследуемых пациенток по полиморфным локусам генов TGF $\beta$ 1, MMP9, кодирующих белки, которые участвуют в метаболизме соединительной ткани. Содержание TGF $\beta$ 1 и MMP9 в сыворотке крови обследованных пациенток определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

Результаты и обсуждение. В основной группе статистически значимо чаще по сравнению с группой контроля регистрировались гомозиготный по вариантному аллелю -8202G (G/G) генотип полиморфизма A-8202G гена MMP9 (ОР=4,00; 95% ДИ 1,23-12,98; p=0,02) и гетерозиготный (Arg/Pro) генотип полиморфизма Arg25Pro гена TGF $\beta$ 1 (ОР=3,75; 95% ДИ 1,88-7,47; p<0,0001). Установлена ассоциация указанных генотипов со статистически значимым возрастанием сывороточной концентрации кодируемых ими белков, что позволяет рассматривать данные полиморфные варианты генов TGF $\beta$ 1 и MMP9 в качестве генетических маркеров формирования ИЦН у пациенток с НДСТ.

Заключение. Носительство G/G генотипа полиморфизма A-8202G (rs11697325) гена MMP9 и Arg/Pro генотипа полиморфизма Arg25Pro (rs1800471) гена TGF $\beta$ 1 ассоциировано с высоким риском формирования ИЦН у пациенток с НДСТ.

**Ключевые слова:** полиморфизм гена, истмико-цервикальная недостаточность, недифференцированная дисплазия соединительной ткани, трансформирующий ростовой фактор  $\beta 1$  (TGF $\beta 1$ ), матриксная металлопротеиназа 9 (MMP9).

# Abstract.

Undifferentiated connective tissue dysplasia is a widespread condition among reproductive age women (from 53% to 68.8%). This makes it actual to study the role of genetically determined pathological connective tissue metabolism in female patients with this hereditary syndrome in the development of isthmic-cervical insufficiency (CI).

**Objectives.** To assess the association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) A-8202G (rs11697325) MMP9 of the gene, and also Arg25Pro (rs1800471) TGF $\beta 1$  gene and isthmic-cervical insufficiency in female patients with undifferentiated connective tissue dysplasia.

**Material and methods.** A «case-control» study has been carried out. Medical, obstetric histories and blood samples were obtained from 71 pregnant women at 22-24 weeks of singleton pregnancy with (n=36) and without (n=35) undifferentiated connective tissue dysplasia and CI. Samples were analyzed by using an allele-specific polymerase chain reaction assay for variants in two genes, the MMP9 and TGF $\beta 1$ , encoding proteins, participating in connective tissue metabolism. Serum levels of MMP9 and TGF $\beta 1$  were determined by enzyme immunoassay (ELISA).

**Results.** Two genotypes were significantly associated with isthmic-cervical insufficiency compared with controls: homozygous carriers of the MMP9 -8202G allele (genotype G/G) (OR=4.00, 95% CI 1.23-12.98, p=0.02) and carriers of Arg/Pro genotype of the TGF $\beta 1$  (OR=3.75, 95% CI 1.88-7.47, p<0.0001). Carriers of these genotypes had significantly higher serum levels of encoded by them proteins.

**Conclusions.** GG genotype of the A-8202G polymorphism of MMP9 gene and ArgPro genotype of the Arg25Pro polymorphism of TGF $\beta 1$  gene are associated with a high risk of isthmic-cervical insufficiency development in female patients with undifferentiated connective tissue dysplasia.

**Key words:** gene polymorphism, isthmic-cervical insufficiency, undifferentiated connective tissue dysplasia, transforming growth factor  $\beta 1$  (TGF $\beta 1$ ), matrix metalloproteinase 9 (MMP9).

В последние годы широкое распространение получают исследования, посвящённые выявлению ассоциаций полиморфных вариантов генов с определённым заболеванием. Такой интерес научного сообщества объясним: определение генетической детерминанты позволит не только уточнить патогенез болезни, но и разработать оптимальные подходы к её лечению с учетом индивидуальности каждого пациента. Активное развитие молекулярно-биологических, биохимических наук способствует пересмотру традиционных представлений, в том числе и об истмико-цервикальной недостаточности (ИЦН), которая остаётся весьма актуальной проблемой современного акушерства, являясь одной из основных причин поздних репродуктивных потерь: на долю ИЦН приходится 15-40% поздних самопроизвольных выкидышей и 30-35% спонтанных преждевременных родов [1, 2]. Все больше исследователей указывает на связь между дисплазией соединительной ткани и развитием ИЦН, отмечая негативное влияние недифференцированной дисплазии соединительной ткани (НДСТ) на запирательную функцию шейки матки во время беременности, более высокую частоту ИЦН

у беременных с указанным синдромом, а также определённую генетическую детерминированность данного гестационного осложнения: треть беременных с ИЦН имеют родственниц первой линии с таким же осложнением гестации [3]. Известно, что при ИЦН содержание соединительной ткани в шейке матки, на 85% состоящей из коллагена I типа, снижается до 40%, что приводит к раннему ее укорочению, размягчению, развитию функциональной недостаточности. Кроме того, гистоморфологические исследования ткани шейки матки у небеременных с ИЦН в анамнезе позволили выявить более низкую концентрацию как коллагена, так и его метаболита – гидроксипролина в сравнении с аналогичными показателями пациенток без ИЦН в анамнезе [4-6]. Таким образом, всё больше авторов рассматривает патологический метаболизм соединительной ткани в качестве одного из ключевых факторов формирования ИЦН [7-9].

К рассмотрению проблемы ИЦН с позиций наследственных факторов риска располагают и данные о зависимости частоты развития данного гестационного осложнения от расы. Так, у женщин негроидной расы риск развития ИЦН почти

в 3 раза выше по сравнению с европеоидами (относительный риск (ОР)=2,89; 95% доверительный интервал (ДИ) 2,13-3,92) [10]. Важность участия генетических факторов в реализации ИЦН также подтверждается и результатами многочисленных исследований, свидетельствующих, что у женщин с дифференцированными формами дисплазии соединительной ткани (синдромы Эллерса-Данло, Стиклера, Марфана) частота преждевременных родов, связанных с ИЦН, колеблется от 22 до 35% от общего числа родов, причем до 40% из них сопровождаются преждевременным разрывом плодных оболочек [11].

Поскольку распространённость недифференцированных форм дисплазии среди женщин репродуктивного возраста достаточно высока (от 53% до 68,8%) [12], изучение ИЦН с точки зрения НДСТ приобретает особую актуальность.

НДСТ относится к наследственным заболеваниям соединительной ткани и обусловлена точковыми мутациями генов, кодирующих синтез и метаболизм соединительной ткани. Следствием таких мутаций является нарушение процессов формирования и созревания пространственной структуры волокон коллагена и эластина, в результате чего происходит снижение их устойчивости к механическим нагрузкам, ускорение дезорганизации и деградации. В отличие от дифференцированных форм дисплазии, имеющих чётко установленные генный дефект, тип наследования, клиническую картину заболевания – данная группа дисплазий выделяется весьма вариабельной клинической картиной и комплексом фенотипических признаков, который не соответствует ни одной из синдромных форм [12, 13].

Таким образом, гены, кодирующие метаболизм соединительной ткани, представляются наиболее перспективными для изучения в заявленном контексте. В качестве генов-кандидатов были выбраны гены, кодирующие продукцию матриксной металлопротеиназы 9 (MMP9) и трансформирующего ростового фактора бета 1 (TGFβ1).

MMP9, или желатиназа В, относится ко второму подсемейству цинк-зависимых эндопептидаз. Субстратом для MMP9 являются денатурированный коллаген I типа, нативные коллагены типов IV, V, энтактин, соединяющий ламинин и коллаген IV типа, который является основным компонентом базальной мембраны многих фиброзных органов, в том числе и шейки матки. В результате повышения активности MMP9 проис-

ходит массивный апоптоз и ускоренное отщепление от базальной мембраны клеток и элементов соединительной ткани, что приводит к стремительному снижению её прочностных характеристик. Рядом исследователей отмечены высокие сывороточные концентрации MMP9 при преждевременных родах, а также непосредственное участие указанного фермента в преждевременном разрыве плодных оболочек [14, 15].

TGFβ1 принимает активное участие в ремоделировании соединительной ткани посредством влияния на синтез белков экстрацеллюлярного матрикса (коллагенов I, III типов и фибронектина). Известно, что увеличенная активность TGFβ1 является одним из ключевых факторов развития таких патологических процессов при синдроме Марфана и родственных наследственных дисплазиях соединительной ткани, как аневризма и расслоение аорты, гипермобильность суставов, миксоматозные изменения атриовентрикулярных клапанов. Следует отметить, что TGFβ1 увеличивает продукцию MMP9 в клетках различных типов через процесс, захватывающий синтез протеина, увеличивающего стабильность мРНК MMP9. С другой стороны, увеличенная MMP9, напротив, способна расщеплять латентный TGFβ1, приводя к активации последнего по принципу обратной связи [16].

Цель исследования – изучить ассоциацию полиморфизмов A-8202G (rs11697325) гена MMP9 и Arg25Pro (rs1800471) гена TGFβ1 с истмико-цервикальной недостаточностью у пациенток с недифференцированной дисплазией соединительной ткани.

## Материал и методы

Проведено исследование типа «случай-контроль» с участием 71 беременной, наблюдавшейся на базе УЗ «ВГКРД№2» в 2018-2019 гг. Обследованные женщины были разделены на 2 группы в зависимости от наличия ИЦН и маркеров НДСТ. В основную группу (I группа) вошли 36 пациенток с ИЦН и НДСТ, группу контроля (II группа) составили 35 здоровых беременных без ИЦН.

В исследование не включались пациентки с беременностью, наступившей в результате применения вспомогательных репродуктивных технологий, многоплодной беременностью, ампутацией шейки матки в анамнезе, декомпенсацией акушерской и экстрагенитальной патологии, по-

роками развития плода, дифференцированными формами дисплазии соединительной ткани.

Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской Декларации. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет». До включения в исследование у всех участниц было получено письменное информированное согласие.

Обследование беременных включало изучение соматического и акушерско-гинекологического анамнезов, антропометрию (измерение роста, массы тела, определение индекса массы тела), оценку выраженности фенотипических маркеров НДСТ (по ранжированной шкале оценки НДСТ у беременных Керимкуловой Н.В., 2016), определение гипермобильности суставов (по методу Бейтона), осмотр шейки матки в зеркалах, бимануальное влагалищное исследование, трансвагинальную ультразвуковую цервикометрию. Диагностика ИЦН осуществлялась на основании данных клинического исследования и трансвагинальной ультразвуковой цервикометрии (длина сомкнутой части шейки матки  $\leq 25$  мм, соотношение длины шейки матки к ее диаметру на уровне внутреннего зева менее 1,2, расширение внутреннего зева более 5 мм).

Лабораторное исследование включало молекулярно-генетическое типирование обследуемых пациенток по полиморфным локусам Arg25Pro (915G>C; rs1800471) гена TGF $\beta$ 1 и A-8202G (rs11697325) гена MMP9, а также определение содержания TGF $\beta$ 1 и MMP9 в сыворотке крови. ДНК из лейкоцитов крови выделяли с помощью коммерческого набора «ДНК-экспресс-кровь» (НПФ «Литех», РФ). Генотипирование осуществляли с использованием соответствующих коммерческих наборов для выявления мутаций (полиморфизмов) в геноме человека «SNP-экспресс» (НПФ «Литех», РФ) методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции с детекцией результатов методом горизонтального электрофореза в 3% агарозном геле по стандартной схеме.

Содержание MMP9 и TGF $\beta$ 1 в образцах сыворотки крови определяли с помощью коммерческих тест-систем «Human TGF $\beta$ 1 Elisa Kit», «Human MMP-9 Elisa Kit», («Elabscience Biotechnology Co., Ltd», Китай) методом иммуноферментного анализа (ИФА). Учёт результатов

проводился с помощью программного обеспечения, адаптированного к ИФА-анализатору производства ОАО «Витязь», Республика Беларусь (фотометр универсальный Ф300 ТП).

Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Статистический анализ проводился с использованием программы STATISTICA 10.0 (разработчик StatSoft.Inc). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критериев Шапиро-Уилка. Все результаты количественных показателей подчинялись нормальному закону распределения и представлены в виде  $M \pm SD$ , где  $M$  – среднее арифметическое,  $SD$  – стандартное отклонение. При анализе межгрупповых различий количественных признаков между двумя независимыми группами рассчитывался  $t$ -критерий Стьюдента. С целью сравнения распределения качественных признаков в исследуемых группах использовали критерий Пирсона  $\chi^2$ -квadrat ( $\chi^2$ ) с поправкой Йетса на непрерывность. В качестве показателя тесноты связи между количественными показателями, имеющими нормальное распределение, использовался коэффициент корреляции  $r_{xy}$  Пирсона.

Распределение генотипов по исследуемым полиморфным локусам проверено на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью теста Фишера. Качественные данные представлены в виде числа  $n$  и % (число пациенток – носительниц данного аллеля и процент от их количества в группе исследуемых) или десятичной доли единицы ( $P$ ). Межгрупповые различия по частотам распределения генотипов полиморфных вариантов изучаемых генов определяли при помощи критерия Пирсона  $\chi^2$ -квadrat ( $\chi^2$ ). Для анализа ассоциации аллелей и генотипов исследуемых генов с риском развития гестационного осложнения рассчитан относительный риск (ОР) с 95% доверительными интервалами (ДИ). При всех видах статистического анализа различия считались значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Пациентки обеих групп были сопоставимы по возрасту: средний возраст пациенток в основной группе составил  $28,9 \pm 4,5$  года, в контрольной группе –  $29,3 \pm 5,4$  года.

Среди беременных основной группы наиболее часто фигурировали такие фенотипические и висцеральные маркеры дисплазии, как варикозная болезнь (диагностирована у 52,7% пациенток), пролапс митрального клапана (44,4%), миопия (61,1%), спланхноптоз (25%).

У беременных с НДСТ статистически значимо чаще имел место неблагоприятный исход предыдущей беременности: преждевременное прерывание беременности встречалось у 41,6% беременных основной группы против 11,4% случаев – в контрольной (ОР=3,64; 95% ДИ 1,34-9,91;  $p=0,005$ ), неразвивающаяся беременность имела место в анамнезе у 33,3% и 11,4% пациенток соответственно (ОР=2,9; 95% ДИ 1,04-8,18;  $p=0,03$ ).

По паритету беременности, а также по частоте и характеру гинекологической патологии основная и контрольная группы между собой не различались.

Ведущее место в структуре осложнений настоящей беременности у женщин основной группы занимали гестационные осложнения, ассоциированные с невынашиванием: достоверно чаще в сравнении с группой контроля у беременных с ИЦН и НДСТ диагностировались в I триместре угрожающий и начавшийся выкидыш (55,6% против 31,4%, ОР=1,8; 95% ДИ 1,01-3,12;  $p=0,041$ ), ретрохориальная гематома (30,5% про-

тив 8,6%, ОР=3,4; 95% ДИ 1,05-11,35;  $p=0,024$ ), во II и III триместрах в 2,4 раза чаще – преждевременное излитие околоплодных вод (ОР=2,43; 95% ДИ 1,23-4,77;  $p=0,07$ ).

У беременных основной группы среднее значение концентрации MMP9 в сыворотке крови в 1,4 раза превысило значение данного показателя в группе контроля ( $1,43 \pm 0,34$  нг/мл против  $1 \pm 0,35$  нг/мл,  $p=0,000002$ ), уровень сывороточной концентрации TGF $\beta$ 1 в основной группе также статистически значимо превысил значение данного показателя в контрольной группе ( $32,2 \pm 12,0$  нг/мл против  $16,4 \pm 5,7$  нг/мл,  $p<0,0001$ ), что свидетельствует об усиленном коллагенолизе у пациенток с ИЦН на фоне НДСТ.

Нами установлена обратная умеренная статистически значимая корреляция между длиной шейки матки и уровнем MMP9 в сыворотке крови у пациенток основной группы ( $r=-0,49$ ,  $p=0,0025$ ) (рис. 1).

Характер распределения аллелей и генотипов по полиморфным вариантам исследуемых генов в обеих группах соответствовал равновесию Харди–Вайнберга. Полученные результаты распространенности полиморфных аллелей генов MMP9 и TGF $\beta$ 1 у женщин контрольной группы совпали с соответствующими данными базы данных NCBI (db SNP).

При анализе распределения частот геноти-

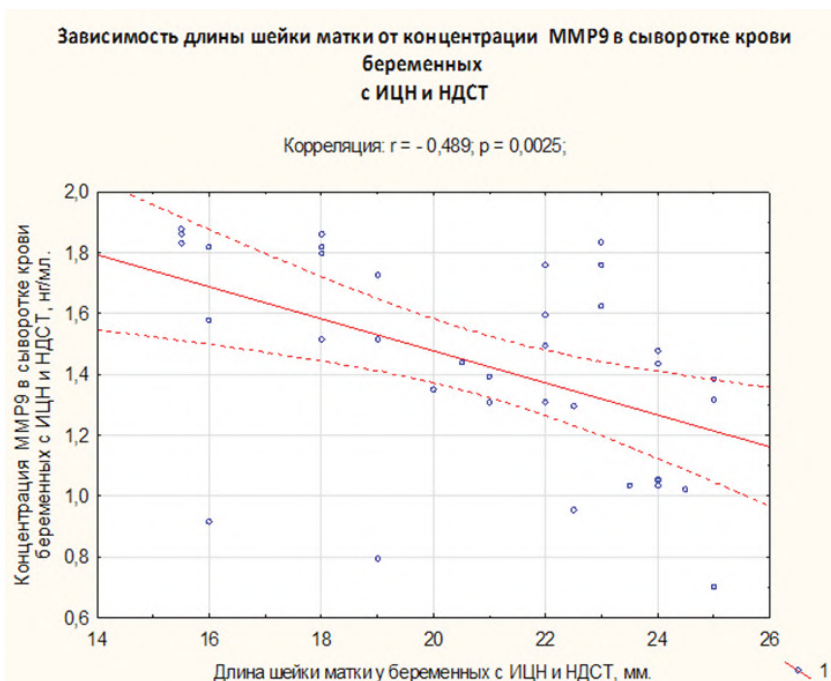


Рисунок 1 — Зависимость длины шейки матки от сывороточной концентрации MMP9 у пациенток основной группы.

пов по полиморфизму A-8202G гена MMP9 было установлено, что гомозиготный по вариантному аллелю -8202G (G/G) генотип статистически значимо чаще встречался в основной группе по сравнению с группой контроля (OR=4,00; 95% ДИ 1,23-12,98;  $p=0,02$ ). В целом, вариантный аллель -8202G можно расценивать как «аллель риска» развития ИЦН у пациенток с НДСТ, так как было выявлено, что его присутствие в генотипе как в гомо-, так и в гетерозиготном состоянии ассоциировано с более высокой частотой встречаемости данного гестационного осложнения (OR=1,84; 95% ДИ 1,01-3,39;  $p=0,04$ ) (табл. 1).

При анализе распределения частот генотипов по полиморфизму Arg25Pro гена TGFβ1 в основной группе была зарегистрирована статистически значимо более высокая частота встречаемости по сравнению с группой контроля гетерозиготного генотипа (Arg/Pro) данного полиморфного локуса (OR=3,75; 95% ДИ 1,88-7,47;  $p<0,0001$ ). Интересно отметить, что гомозиготный по аллели Arg25- генотип (Arg/Arg)

чаще встречался именно в контрольной группе (OR=0,29; 95% ДИ 0,15-0,6;  $p<0,0001$ ) (табл. 2).

В ходе проведенного исследования зависимости концентрации MMP9 в сыворотке крови обследованных пациенток от генотипа по полиморфизму A-8202G гена MMP9 было установлено, что у пациенток с наличием «мутантного» аллеля -8202G (A/G и G/G генотипы), содержание MMP9 было статистически значимо выше, чем у носительниц генотипа A/A, и составило  $1,31 \pm 0,43$  нг/мл против  $1,08 \pm 0,31$  нг/мл ( $p=0,021$ ). Причем наиболее высокий уровень MMP9 был выявлен у беременных с генотипом G/G (табл. 3).

При изучении влияния генотипов полиморфизма Arg25Pro гена TGFβ1 на сывороточную концентрацию кодируемого им белка была выявлена сопряженность генотипа Arg/Pro указанного полиморфизма со статистически значимо более высокой сывороточной концентрацией TGFβ1 в сравнении с данным показателем у носительниц гомозиготного генотипа по аллелю Arg25- (табл. 4). Таким образом, наличие у пациенток с НДСТ

Таблица 1 – Распределение частот генотипов по полиморфизму A-8202G гена MMP9 у пациенток основной и контрольной групп

Генотип, аллель	Частота, P		$\chi^2$	p	OR	95% ДИ
	ИЦН+НДСТ (n=36)	Контрольная группа (n=35)				
A/A	0,28	0,48	3,26	0,07	0,57	0,30-1,07
A/G	0,38	0,43	0,12	0,73	0,90	0,52-1,59
G/G	<b>0,34*</b>	0,09	5,39	<b>0,02</b>	4,00	1,23-12,98
Аллель A-8202	0,47	0,7	3,31	0,07	0,68	0,46-1,04
Аллель 8202G	<b>0,53*</b>	0,3	4,30	<b>0,04</b>	1,84	1,01-3,39

Примечание: \* – различия статистически значимы по сравнению с группой контроля ( $p<0,05$ ); OR – относительный риск; ДИ – доверительный интервал.

Таблица 2 – Распределение частот генотипов по полиморфизму Arg25Pro гена TGFβ1 у пациенток основной и контрольной групп

Генотип, аллель	Частота, P		$\chi^2$	p	OR	95% ДИ
	ИЦН+НДСТ (n=36)	Контрольная группа (n=35)				
Arg/Arg	<b>0,19*</b>	0,66	15,57	<b>0,0001</b>	0,29	0,15-0,6
Arg/Pro	<b>0,75*</b>	0,2	21,51	<b>0,0001</b>	3,75	1,88-7,47
Pro/Pro	0,05	0,14	0,69	0,40	0,39	0,08-1,87
Аллель Arg25	0,57	0,74	2,73	0,1	0,75	0,53-1,06
Аллель 25Pro	0,43	0,26	2,02	0,16	1,62	0,82-3,21

Примечание: \* – различия статистически значимы по сравнению с группой контроля ( $p<0,05$ ).

Таблица 3 – Зависимость сывороточной концентрации MMP9 от генотипа по полиморфизму A-8202G гена MMP9 у обследованных пациенток

Концентрация	Генотип			t-Test; p		
	I	II	III			
	A/A (n=27)	A/G (n=29)	G/G (n=15)	P <sub>I-II</sub>	P <sub>I-III</sub>	P <sub>II-III</sub>
MMP-9, нг/мл	1,30±0,24	1,33±0,36	<b>1,68±0,23*</b>	0,88	<b>0,0017</b>	<b>0,007</b>

Примечание: \* – различия статистически значимы при сравнении с показателями I и II группы (p<0,05).

Таблица 4 – Зависимость сывороточной концентрации TGFβ1 по полиморфизму Arg25Pro гена TGFβ1 у обследованных пациенток

Концентрация	Генотип			t-Test; p		
	I	II	III			
	Arg/Arg (n=30)	Arg/Pro (n=34)	Pro/Pro (n=7)	P <sub>I-II</sub>	P <sub>I-III</sub>	P <sub>II-III</sub>
TGFβ1, нг/мл	21,16±13,05	<b>27,81±12,04*</b>	23,25±6,37	<b>0,039</b>	0,82	0,21

Примечание: \* – различия статистически значимы при сравнении с показателями I группы (p<0,05).

«мутантных» генотипов генов MMP9 и TGFβ1 связано со статистически значимым увеличением сывороточной концентрации кодируемых ими белков.

Полученные результаты позволяют рассматривать указанные полиморфные варианты генов TGFβ1 и MMP9 в качестве генетических маркеров формирования ИЦН у пациенток с НДСТ.

При анализе исходов настоящей беременности у обследуемых пациенток было выявлено, что частота преждевременных родов в основной группе составила 36,11% против 2,86% случаев в контрольной группе (OR=12,63; 95% ДИ 1,74-91,45; p=0,0006). Обращает на себя внимание, что в структуре преждевременных родов у пациенток с ИЦН и НДСТ преобладали очень ранние (до 28 недель) и ранние (от 28 недель до 33 недель 6 дней) преждевременные роды – 7 (53,8%) случаев, тогда как единственные преждевременные роды, имевшие место в группе контроля, относились к поздним (от 34 недель до 36 недель 6 дней).

## Заключение

1. Установлена ассоциация изучаемых полиморфных вариантов генов с истмико-цервикальной недостаточностью у пациенток с недифференцированной дисплазией соединительной ткани: у женщин основной группы статистически значимо чаще в сравнении с пациентками контрольной группы регистрировались генотип G/G полиморфизма A-8202G, (rs11697325) гена

MMP9 и генотип Arg/Pro полиморфного локуса Arg25Pro (rs1800471) гена TGFβ1 (OR=4,00; 95% ДИ 1,23-12,98; p=0,02; и OR=3,75; 95% ДИ 1,88-7,47; p<0,0001 соответственно), что позволяет рассматривать указанные генотипы в качестве маркеров высокой вероятности развития ИЦН у данной когорты пациенток.

2. У женщин контрольной группы статистически значимо чаще имел место генотип Arg/Arg полиморфного локуса Arg25Pro (rs1800471) гена TGFβ1 (OR=0,29; 95% ДИ 0,15-0,6; p<0,0001), что можно расценить как «протективный» эффект в отношении ИЦН.

Таким образом, молекулярно-генетическое типирование полиморфных вариантов A-8202G (rs11697325) гена MMP9 и Arg25Pro (rs1800471) гена TGFβ1 позволит на прегравидарном этапе и на ранних сроках беременности сформировать группы высокого риска по развитию истмико-цервикальной недостаточности у пациенток с НДСТ, разработать индивидуальные рекомендации по профилактике и ранней диагностике данного гестационного осложнения, повысить эффективность его лечения и, таким образом, улучшить акушерский и перинатальный прогнозы.

**Финансирование:** Настоящее исследование выполнено в рамках внутриуниверситетского научного стартап-гранта для молодых ученых учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» 2019 года.

**Financing:** *This research was carried out within the frames of intra-University scientific startup-grant for young scientists of «Vitebsk State order of Peoples' Friendship medical University» in 2019.*

## Литература

1. Сидельникова, В. М. Невынашивание беременности : рук. для практикующих врачей / В. М. Сидельникова, Т. Г. Сухих. – Москва : МИА, 2010. – 536 с.
2. Vink, J. Cervical etiology of spontaneous preterm birth / J. Vink, H. Feltovich // Semin. Fetal. Neonatal Med. – 2016 apr. – Vol. 21, N 2. – P. 106–112.
3. Collagen 1 $\alpha$ 1 and Transforming Growth Factor- $\beta$  Polymorphisms in Women With Cervical Insufficiency / J. E. Warren [et al.]. – 2007 Sep. – Vol. 110, N 3. – P. 619–624.
4. Petersen, L. K. Cervical collagen in non-pregnant women with previous cervical incompetence / L. K. Petersen, N. Uldbjerg // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 1996 Jul. – Vol. 67, N 1. – P. 41–45.
5. Cross-linked collagen in the cervix of pregnant women with cervical insufficiency / D. Schlembach [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2003 Dec. – Vol. 189, N 6, suppl. – P. S70.
6. Cervical collagen is reduced in non-pregnant women with a history of cervical insufficiency and a short cervix / I. Sundtoft [et al.] // Acta Obstet. Gynecol. Scand. – 2017 Aug. – Vol. 96, N 8. – P. 984–990.
7. Гурбанова, С. Р. Возможности оптимизации акушерской тактики ведения беременности и родов у пациенток с истмико-цервикальной недостаточностью и маркерами недифференцированной дисплазии соединительной ткани / С. Р. Гурбанова // Вестн. РУДН. Сер. Медицина. – 2009. – № 6. – С. 196–200.
8. Cervical Collagen Network Remodeling in Normal

- Pregnancy and Disrupted Parturition in Antxr2 Deficient Mice / K. Yoshida [et al.] // J. Biomech. Eng. – 2014 Feb. – Vol. 136, N 2. – P. 021017.
9. Фролов, А. Л. Роль маркеров дисплазии соединительной ткани в развитии истмико-цервикальной недостаточности при беременности / А. Л. Фролов, В. А. Кулагин, М. В. Никифорова // Мать и дитя в Кузбассе. – 2014. – № 3. – С. 54–56.
10. Maternal race/ethnicity and cervical insufficiency / L. Davidson [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2016 Jan. – Vol. 214, N 1, suppl. – P. S441.
11. Pregnancy outcomes in women with ehlers-danlos syndrome / L. Nicholls-Dempsey [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2019 Jan. – Vol. 220, N 1. – P. S381–S382.
12. Национальные клинические рекомендации Российского научного медицинского общества терапевтов по диагностике, лечению, реабилитации пациентов с дисплазиями соединительной ткани (первый пересмотр) // Мед. вестн. Север. Кавказа. – 2018. – Т. 13, № 1/2. – С. 137–209.
13. Масленников, А. В. Течение беременности у женщин с недифференцированной дисплазией соединительной ткани / А. В. Масленников, А. Г. Яшук, И. Р. Тимершина // Мед. вестн. Башкортостана. – 2014. – Т. 9, № 3. – С. 55–58.
14. A role for matrix metalloproteinase-9 in spontaneous rupture of the fetal membranes / N. Athayde [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 1998 Nov. – Vol. 17, N 5. – P. 1248–1253.
15. The value of cervical length and plasma proMMP-9 levels for the prediction of preterm delivery in pregnant women presenting with threatened preterm labor / D. Botsis [et al.] // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2006 Sep-Oct. – Vol. 128, N 1/2. – P. 108–112.
16. Рудой, А. С. TGF-beta-зависимый патогенез синдрома Марфана и родственных наследственных нарушений соединительной ткани / А. С. Рудой // Артер. гипертензия. – 2009. – Т. 15, № 2. – С. 223–226.

Поступила 14.02.2020 г.

Принята в печать 01.06.2020 г.

## References

1. Sidel'nikova VM, Sukhikh TG. Miscarriage : ruk dlia praktikiushchikh vrachei. Moscow, RF: MIA; 2010. 536 p. (In Russ.)
2. Vink J, Feltovich H. Cervical etiology of spontaneous preterm birth. Semin Fetal Neonatal Med. 2016 Apr;21(2):106-12. doi: 10.1016/j.siny.2015.12.009
3. Warren JE, Silver RM, Dalton J, Nelson LT, Branch DW, Porter TF. Collagen 1 $\alpha$ 1 and Transforming Growth Factor- $\beta$  Polymorphisms in Women With Cervical Insufficiency. Obstet Gynecol. 2007 Sep;110(3):619-24. doi: 10.1097/01.AOG.0000277261.92756.1a
4. Petersen LK, Uldbjerg N. Cervical collagen in non-pregnant women with previous cervical incompetence. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1996 Jul;67(1):41-5. doi: 10.1016/0301-2115(96)02440-2
5. Schlembach D, Maul Y, Fittkow C, Olson G, Saade G, Garfield R. Cross-linked collagen in the cervix of pregnant women with cervical insufficiency. Am J Obstet Gynecol.

- 2003 Dec;189(6 Suppl):S70. doi: 10.1016/j.ajog.2003.10.034
6. Sundtoft I, Langhoff-Roos J, Sandager P, Sommer S, Uldbjerg N. Cervical collagen is reduced in non-pregnant women with a history of cervical insufficiency and a short cervix. Acta Obstet Gynecol Scand. 2017 Aug;96(8):984-990. doi: 10.1111/aogs.13143
7. Gurbanova SR. Opportunities for optimizing obstetric management of pregnancy and childbirth in patients with isthmio-cervical insufficiency and markers of undifferentiated connective tissue dysplasia. Vestn RUD. Ser Meditsina. 2009;(6):196-200. (In Russ.)
8. Yoshida K, Reeves C, Vink J, Kitajewski J, Wapner R, Jiang H, et al. Cervical Collagen Network Remodeling in Normal Pregnancy and Disrupted Parturition in Antxr2 Deficient Mice. J Biomech Eng. 2014 Feb;136(2):021017. doi: 10.1115/1.4026423
9. Frolov AL, Kulagin VA, Nikiforova MV. The role of markers of connective tissue dysplasia in the development of isthmio-cervical insufficiency during pregnancy. Mat' Ditya Kuzbasse. 2014;(3):54-6. (In Russ.)



10. Davidson L, Tucker L-Y, Postlethwaite D, Greenberg M. Maternal race/ethnicity and cervical insufficiency. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Jan;214(1 Suppl):S441. doi: 10.1016/j.ajog.2015.10.896
11. Nicholls-Dempsey L, Spiegel E, Czuzoj-Shulman N, Abenhaim HA. Pregnancy outcomes in women with ehlers-danlos syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 2019 Jan;220(1):S381-2. doi: 10.1016/j.ajog.2018.11.596
12. National clinical recommendations of the Russian Scientific Medical Society of Therapists in the diagnosis, treatment, and rehabilitation of patients with connective tissue dysplasia (first review). *Med Vestn Sever Kavkaza.* 2018;13(1-2):137-209. (In Russ.)
13. Maslennikov AV, Yashchuk AG, Timerschina IR. Pregnancy in women with undifferentiated connective tissue dysplasia. *Med Vestn Bashkortostana.* 2014;9(3):55-8. (In Russ.)
14. Athayde N, Edwin SS, Romero R, Gomez R, Maymon E, Pacora P, et al. A role for matrix metalloproteinase-9 in spontaneous rupture of the fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1998 Nov;179(5):1248-53. doi: 10.1016/s0002-9378(98)70141-3
15. Botsis D, Makrakis E, Papagianni V, Kouskouni E, Grigoriou O, Dendrinis S, et al. The value of cervical length and plasma proMMP-9 levels for the prediction of preterm delivery in pregnant women presenting with threatened preterm labor. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006 Sep-Oct;128(1-2):108-12. doi: 10.1016/j.ejogrb.2005.10.022
16. Rudoy AS. TGF-beta-dependent pathogenesis of Marfan syndrome and related hereditary connective tissue disorders. *Arter Gipertenziia.* 2009;15(2):223-6. (In Russ.)

Submitted 14.02.2020

Accepted 01.06.2020

#### Сведения об авторах:

Кононенко И.С. – ассистент кафедры акушерства и гинекологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4915-8269>.

#### Information about authors:

Kononenko I.S. – lecturer of the Chair of Obstetrics and Gynecology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4915-8269>.

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра акушерства и гинекологии. E-mail: [IrynaKananenka@yandex.by](mailto:IrynaKananenka@yandex.by) – Кононенко Ирина Сергеевна.

**Correspondence address:** Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Obstetrics and Gynecology. E-mail: [IrynaKananenka@yandex.by](mailto:IrynaKananenka@yandex.by) – Irina S. Kononenko.